13 med

Tumordiagnostik mit der Seroflockungsreaktion von H. S. Penn und F. C. Chang; ihre Beziehung zur Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit und den Eiweißfraktionen des Blutserums

von

ECKARD JACOBI

1964

Aus der Hautklinik des Universitäts-Krankenhauses

Hamburg - Eppendorf

Direktor: Professor Dr. med.Dr. phil.J. K i m m i g

Tumordiagnostik mit der Seroflockungsreaktion von H. S. P e n n und F. C. C h a n g ; ihre Beziehung zur Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit und den Eiweißfraktionen des Blutserums

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

E c k a r d J a c o b i

aus Hannover

Hamburg im Frühjahr 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am 9.5.1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Professor Dr. R. Prévôt
Referent: Professor Dr. Meyer-Rohn
Korreferent: Professor Dr. Kimmig

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

D i s p o s i t i o n

A Einleitung

I. Genese und Ätiologie der Tumoren, das Problem einer generellen Tumorfrühdiagnostik Seite 5

II. Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit Seite 6

B Hauptteil

I. Wichtige serologische Untersuchungen zur Diagnostik des Krebses

a) Nachweis der für die Tumorzelle spezifischen Lipoid- und Eiweißstrukturen mittels:

1. Der Komplement-Bindungsreaktion Seite 9
2. Der Restspannungsmethode Seite 10
3. Der Polarographie Seite 10

b) Die mit der Zytolyse der Krebszelle in Zusammenhang stehenden Reaktionen:

1. Die FREUND - KAMINER'sche Reaktion Seite 11
2. Zellabbau durch Fermente (ABDERHALDEN'sche und FUCHS'sche Reaktion) Seite 11

c) Die unspezifischen Bluteiweißlabilitätsproben Seite 13

II. Seroflockungsreaktionen mit Gallensäurederivaten Seite 19

III. Die Seroreaktion nach F.C. CHANG und H.S. PENN Seite 24

IV. Elektrophorese

a) Allgemeiner Teil Seite 28

b) Experimenteller Teil Seite 32

V. Eigene Untersuchungen mit der Seroflockungsreaktion nach H.S. PENN und F.C. CHANG und der Papierelektrophorese

a) Methodik der Teste Seite 40

b) Tabellarische Zusammenstellung Seite 46

C Diskussion Seite 58

D Zusammenfassung Seite 61

E Literaturverzeichnis Seite 63

E i n l e i t u n g

Genese und Ätiologie der Tumoren, das Problem einer generellen Tumorfrühdiagnostik

Betrachtet man die Vielzahl der äußeren und inneren Einflüsse, aus denen man die Entstehung der Geschwülste ableitet, so muß man unwillkürlich auf den Gedanken kommen, daß es nicht möglich sein kann, generell alle Tumoren im Entstehungsstadium mit einem bestimmten Test zu erfassen. Grundsätzlich gibt es ja auch keinen Unterschied zwischen malignen und benignen Tumoren. Die Diagnose benigne oder maligne ist eine Definition auf Grund des klinischen Verhaltens eines Tumors, die wir durch jahrzehntelange Erfahrung festgelegt haben.

Sehen wir einmal von den inneren Einflüssen, der Vererbung z. B. beim Acusticustumor oder beim Retinagliom und den einzelnen Dispositionen wie Alters-, Geschlechts-, Organdisposition ab, so ist das Bild der äußeren Einflüsse sehr verwirrend.

Viele Dinge können zur Krebsentstehung führen: z. B. die Abkömmlinge des Anthrazens oder Röntgen-, Radium-, Ultraviolett- und Infrarotstrahlen, von belebten Agentien die Bilharzia und Cysticerken oder die Viren beim R o u s - Sarkom. Auch körpereigene Stoffe, so die Hormone beim Prostata- und Mammakarzinom sind von Einfluß.

Beim Tier ist der Milchfaktor (Bittner) ein ausschlaggebender Stoff für die Krebsentstehung. Bekommen junge Mäuse aus krebsresistenten Stämmen 0, 1 cm^3 einer 1 : 10.000 verdünnten Milch von einer Maus aus einem krebsanfälligen Stamm, so überträgt sich der Krebs auf diese Mäuse, den sie bis zur 15. Generation weitervererben. Der Milchfaktor verhält sich wie ein "latentes" Virus (Hamperl).

Aus diesem kurzen Überblick ist ersichtlich, daß eine Frühdiagnose günstigenfalls dann wirksam werden kann, wenn die Geschwulst autonom wird, das heißt, wenn die ursächlichen Stoffe bei der Entstehung für ein Weiterbestehen des Tumors nicht mehr erforderlich sind.

Nach Durchsicht der bekannten serologischen Krebsuntersuchungsmethoden kommt man zu dem Schluß, daß es bisher noch keine spezifische Reaktion gibt, die die erforderliche Treffsicherheit von 99 % besitzt und umgekehrt bei nicht an Krebs erkrankten Patienten nur negative Reaktionen ergibt. Meistens waren die guten Ergebnisse der verschiedenen Autoren bei Überprüfung nicht reproduzierbar. Eine Aussage über die Lokalisation und Qualität des Tumors war bisher erst recht nicht möglich.

Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit

Die von mir durchgeführten Untersuchungen stützen sich auf Veröffentlichungen von F. C. C h a n g ,

G. C. Hall und H. S. Penn über die Verwendbarkeit von Gallensäurederivaten bei der Seroflokkungsreaktion in der Tumordiagnostik, sowie auf Arbeiten, die in der Hautklinik der Universität Hamburg von P. Hein und W. Mayer durchgeführt wurden.

Im Verlauf von serologischen Untersuchungen zur Tumordiagnostik von Meyer - Rohn wurde an der Hautklinik der diagnostische Wert der Seroflockungsreaktion überprüft und ihr Mechanismus zu klären versucht. Man fand, daß der Prozentsatz der positiven Reaktionen bei Tumorkranken relativ hoch war, das jedoch auch in vielen Fällen Krankenseren positiv reagierten wenn kein Tumor vorlag, dagegen aber andere Krankheiten mit durchweg hoher Blutsenkungsgeschwindigkeit.

Zur Klärung dieses Phänomens wurde mir die Aufgabe gestellt, mit Hilfe der Papierelektrophorese (P.E.) die Seroflockungsreaktionen zu klären. Dabei sollten besonders nichttumorkranke Patienten mit hoher Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit berücksichtigt werden.

Nachfolgend wird ein kurzer Überblick über wichtige serologische Krebsreaktionen gegeben, es folgt ein Bericht über die Ansichten und Erfahrungen von H. S. Penn und F. C. Chang über die von ihnen entwickelten Seroflockungsreaktionen, dem sich die Erfahrungen und Ergebnisse der eigenen Untersuchungen anschließen.

Wichtige serologische Untersuchungen zur Diagnostik des Krebses

Wenn heute serologische Untersuchungsmethoden angegeben werden, bei denen man eine einigermaßen befriedigende Spezifität antrifft, so handelt es sich in allen Fällen um die Feststellung von Enzymstörungen, d.h. auf den Nachweis von pathologischen Enzymen, oder aber von qualitativen und quantitativen Abweichungen von der Norm. K. H. B a u e r sagt, daß die Biochemie der Tumoren bisher bewiesen hat, daß sich die Krebszellen immer nur quantitativ aber nicht qualitativ von ihren Mutterzellen unterscheiden. Soweit jedoch eine quantitative Abweichung höheren Grades wie beispielsweise im Kohlenhydratstoffwechsel vorliegt, so sei das nur an den Krebszellen selbst, nicht aber am Organismus erkennbar. Eine spezifische Methode, die bei einem Tumor eine 99 %ige Sicherheit bietet, wie man sie fordern muß, gibt es nicht. Immer wieder findet man positive Reaktionen bei gesunden Patienten und negative bei Tumorkranken. Trotzdem haben bestimmte biologische und biochemische Veränderungen in den Karzinomseren Forscher dazu veranlasst, Seroreaktionen auszuprobieren in der Hoffnung, eine ausreichende Spezifität zu erlangen.

Als die Komponenten bei den sogenannten "spezifischen" Krebsseroreaktionen werden von den Autoren verschiedene Vorgänge angesehen. Im folgenden seien einige der gebräuchlichen Reaktionen angegeben.

a) Nachweis der für die Tumorzelle spezifischen Lipoid- und Eiweißstrukturen mittels:
   1. der Komplement-Bindungsreaktion
   2. der Restspannungsmethode
   3. der Polarographie

b) Die mit der Zytolyse der Krebszelle in Zusammenhang stehenden Reaktionen:
   1. die F r e u n d - K a m i n e r 'sche Reaktion
   2. Zellabbau durch Fermente (Abderhalden'sche und Fuchs'sche Reaktion)

c) Die unspezifischen Bluteiweißlabilitätsproben

H i r s f e l d, W i t e b s k y und L e h m a n n - F a c i u s waren es, die sich bevorzugt mit einer Komplementbindungsreaktion als Methode zur Frühdiagnostik des Krebses beschäftigt haben. Wenn man Kaninchen mit Karzinomzellsuspensionen impfte, so konnte man unter verschiedenen anderen Seren auch Antisera erhalten, die mit Karzinomextrakten reagierten, nicht aber mit Extrakten gesunder Organe. Es handelt sich bei diesen Versuchen nicht um eine allgemeine Karzinomspezifität, da das Ausgangsorgan des Tumors weitgehend mitbestimmend war. Man hat festgestellt, daß weniger das Individuum als die Eigenart des Karzinomgewebes für die Entstehung karzinomspezifischer Antikörper von Bedeutung ist. Lipoid und Globulin als Komponenten der Karzinomzelle schienen W i t e b s k y serologisch differenzierbar zu sein. Auch L e h m a n n - F a c i u s

glaubte, trotz des im Tumormaterials vorhandenen Antigens, karzinomspezifische Antiseren erhalten zu können.

D a n m e y e r mit S c h u b e r t, T r e p l i n und S c h m o h r haben die als Restspannungsmethode bekannt gewordenen Versuche entwickelt, die den Nachweis einer Störung im Phosphatidstoffwechsel beim Karzinom dienen sollten. Im Prinzip wird aus dem Serum ein Aether-Alkoholextrakt hergestellt, der nach Ultravioletbestrahlung mit Wasser extrahiert wird. Nach Absonderung und Entfernung der Aetherschicht wird der Rest mit Benzol extrahiert und der die organischen Serum-Phophatide enthaltende Benzolextrakt auf seine Leitfähigkeit geprüft. Krebs konnte auf diese Weise mit 80 %iger Sicherheit diagnostiziert werden.

W a l d s c h m i d t - L e i t z und M e y e r versuchten eine Krebsdiagnose zu ermöglichen, indem sie enzymatisch faßbare Veränderungen der Sulfhydrilaktivität von Karzinom-Seren polarographisch analysierten. F o r s b e r g und N o r d l a n d e r haben bei progredienten Fällen einen relativ hohen Anfall positiver Ergebnisse gehabt, bei weniger markanten aber nur eine Trefferzahl von 50 % und bei nicht tumor-erkrankten Patienten etwa 9 % positiver Ergebnisse. M e y e r - H e c k spricht dieser Reaktion jegliche Spezifität ab, räumt jedoch ein, daß bei positivem Ausfall der Reaktion ein Herd im Organismus bestehen müsse, ein negativer Ausfall gegen eine ernstere

Erkrankung spräche.

F r e u n d und K a m i n e r, sowie N e u b e r g entdeckten schon 1910, daß das Serum Gesunder die Fähigkeit zur Zytolyse von Krebszellen besitzt. Diese Fähigkeit fehlt dem Serum Krebskranker. Zur Erklärung wurde eine lösende Substanz angenommen, die in jedem Serum vorkam und deren Wirkung durch eine die Krebszellen schützende Substanz im Krebsserum gehemmt wurde. F r e u n d konnte zeigen, daß das normale Lösungsvermögen des Blutes verloren geht und sich das pathologische Schutzvermögen beim Krebskranken einstellt. Lyse wie Hemmung werden durch Fettsäuren verschiedener Art verursacht. Nachprüfungen durch C h r i s t i a n i ergaben, daß der krebszellenlösende Stoff ein Ferment sein mußte. Er gab an, daß das Apoferment ein Albumin sei, das Co-Ferment ein Abkömmling des Ergosterin. Es ergab sich jedoch, daß auch dieses Verfahren für eine einwandfreie Krebsdiagnose nicht in Frage kam, geschweige denn für eine Frühdiagnose.

Im Gegensatz dazu hat sich die A b d e r h a l d e n' sche Reaktion in der Krebsdiagnostik relativ bewährt. Wird des öfteren der Nachweis von Abwehrfermenten erbracht, die es vermögen Karzinomeiweiß abzubauen, so spricht dies unbedingt für das Vorhandensein von Krebs. Da die Karzinomzellen neben ihrem eigentlichen Karzinomcharakter noch organspezifische Eigenschaften haben, gibt es kein allgemeines Krebseiweiß. Zwar bestehen noch Ver-

bindungen zwischen dem Eiweiß des Primärtumors und seinen Metastasen, aber die Abwehrfermente gegen Magenkarzinomeiweiß sind nicht in der Lage Eiweiß eines Mamma- oder Uteruskarzinoms abzubauen. Diese Tatsache und die, daß die im Blut und Harn ausgeschiedenen Abwehr-Proteasen, um die es sich in allen Fällen handelte, mengenmäßig sehr schwankten, machte eine häufige Überprüfung der Reaktion erforderlich.

Bei der 1926 von F u c h s veröffentlichten Reaktion zur Diagnose des Krebses handelt es sich um eine chemische Analyse. F u c h s ging von der Annahme aus, daß von Malignomen spezifische, allen diesen Tumoren eigenen, Stoffe vorhanden seien, die von dem Neoplasma produziert und an das Blut abgegeben werden sollten. Diese Stoffe würden bei der Gerinnung des Blutes an das Fibrin gebunden. Das Serum enthielte ebenfalls eine spezifische Substanz, die an eine ausfällbare Eiweißfraktion gebunden war. F u c h s gab eine 90 %ige Treffsicherheit seiner Diagnosen an, es wurde jedoch über Topographie und über die Frage, ob es sich um ein Karzinom oder Sarkom handele nichts ausgesagt. Aus zahlreichen Untersuchungen wurde der Schluß gezogen, daß es sich um echte Antigene, bzw. deren Antikörper handeln mußte.

Die unspezifischen Eiweißlabilitätsproben

Ein positiver Ausfall von Bluteiweißlabilitätsreaktionen bei Krebskranken wird nicht durch das Vorhandensein von Krebszellen an sich sondern meistens durch Folgeerscheinungen ihres Wachstums, Nekrosen, entzündliche Reaktionen und deren Auswirkungen auf den Körper bewirkt. Das weist darauf hin, daß der Tumor erst einen gewissen Umfang angenommen haben muß, damit diese Labilitätsreaktionen positiv werden. Eine Verwendung zur Frühdiagnostik hat sich bisher leider noch nicht ergeben. Auch muß man bei positiven Reaktionen andere Erkrankungen ausschließen, die möglicherweise eine Veränderung der Kolloidstabilität des Blutes bewirken können und nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Tumor stehen. Eine Ausnahme macht hierbei das Plasmocytom, das in jedem Falle eine pathologische Bluteiweißveränderung hervorruft, da es selbst Proteine produziert und somit abnorme Kolloidstabilitätsreaktionen hervorruft.

H. S. P e n n und F. C. C h a n g , deren Methoden von mir ausgeführt wurden, glauben, daß die von ihnen entwickelte Seroflockungsreaktion mit Gallensäurederivaten eine Antigen- Antikörper-Reaktion sei. M a y e r hält jedoch diese Reaktion lediglich für ein Kolloidflockungsphänomen. Da sich auch meine Untersuchungen weitgehend mit den Ergebnissen von M a y e r decken, möchte ich, ohne jetzt näher auf die Ergebnisse einzugehen, kurz das Prinzip der Bluteiweißreaktionen und

ihrer Eiweißkoagulationsveränderungen erwähnen und zwar in Anlehnung an die Ausführungen von F. H e e p e aus "Die unspezifischen Bluteiweißreaktionen". Moleküle und Molekülkonglomerate kolloidaler Lösungen bewegen sich in einer Größenordnung von 2 bis 250 µ. Die Kolloide haben eine elektrische Ladung und zeigen B r o w n' sche Molekularbewegungen. Ihre Oberflächen sind sehr groß. Wenn die Teilchenzahl in der Volumeneinheit und der jeweilige Teilchenradius konstant ist, so ist ein kolloiddisperses System (Sol) stabil. Erst durch besondere Stabilisierungsfaktoren (Salvation, elektrische Stabilisierung) ist ein Sol in der Lage, im hochdispersen Zustand zu verbleiben. An und für sich besteht die Tendenz, die Oberfläche zu verkleinern. Dieses geschieht durch den Übergang in den Gel-Zustand. Man muß sich darunter die Vereinigung der zunächst im Dispersionsmittel frei beweglichen Teilchen zu größeren Teilchenaggregaten vorstellen.

Da normalerweise die Proteine des menschlichen Blutplasmas sich in der Eukolloidität befinden, bezeichnet man es als Labilisierung eines Serums, wenn es in seiner chemischen und physikalisch-chemischen Zusammensetzung so verändert ist, daß bereits weniger stark fällende Einwirkungen einen kleineren oder größeren Teil oder die Gesamtheit seiner Kolloide in den Gel-Zustand (Fällung, Trübung, Flockung) zu überführen vermögen, als das normalerweise der Fall ist. Zwischen dem Verteilungsverhältnis der feinen und grob dispersen Anteile, dem soge-

nannten Dispersonsgrad, der Kolloidstabilität und dem Ladungszustand der Proteine bestehen enge Zusammenhänge.

Man kann nur bis zu einem gewissen Grade das Maß der veränderten Proteinzusammensetzung eines Serums mit den Labilitätsreaktionen abschätzen. Meistens geht eine erhöhte Kolloidlabilität im Serum mit einer Verschiebung zur grob dispersen Seite einher. Dies zeigt sich im Elektropherogramm in einer Verminderung der Albumine und einer Erhöhung der Globuline bzw. an Verschiebungen einzelner Fraktionen.

Die meisten unspezifischen Bluteiweißreaktionen beruhen auf einer Überführung von dem Sol- in den Gel-Zustand. Diese Möglichkeit ist das Charakteristikum aller Proteine. Das Serum wird dabei in einem geeigneten Ansatz der Einwirkung eines Eiweißfällungsmittels in der Weise ausgesetzt, daß die registrierbare Veränderung (Trübung, Flockung, Gel-Bildung) in pathologischen Seren deutlich unterscheidbar ist von derjenigen in normalen Seren. Die einzelnen chemischen und physikalischen bzw. chemisch-physikalischen Vorgänge sind sehr komplexer Art und noch weitgehend unbekannt.

Der Ausfall einer Eiweißfällungsreaktion ist hinsichtlich Qualität und Quantität die Summe aus diversen Einzelfaktoren, unter anderem der Art und Konzentration des benutzten Eiweißfällungsmittels, der Gesamteiweißkonzentration in der Reaktionsflüssigkeit, der Wasserstoffionen-

konzentration, dem Elektrolytmilieu und der Temperatur, von mechanischen Einflüssen und Strahleneinwirkungen.

Die eingetretene Eiweißkoagulation entnimmt man den qualitativen und quantitativen Erscheinungen, die nach Überführung von Eiweiß aus dem Sol- in den Gel-Zustand auftreten. Es werden Beginn der Reaktion, Trübung, Flockung, Intensität der Reaktion und Änderung der Viskosität registriert.

F. H e e p e hat in einer Tabelle 43 Reaktionen von Eiweißlabilitätsproben zusammengestellt, die ich im folgenden der Übersicht halber wiedergeben möchte. Sie sind nach ihrer Brauchbarkeit für die Krebsdiagnostik beurteilt und man kann leicht daraus entnehmen, wie wenig spezifisch diese Reaktionen sind. In dem Überblick werden auch die Reaktionen aufgeführt, die bei Erkrankungen auftraten, die nicht mit einem Tumor in Zusammenhang standen.

R e a k t i o n e n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Albumin-Ammonsulfat-Reaktion nach KAHN 1924	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SURANYI-Reaktion	+				+					+
Albumin-Wiederauflösungs-Reaktion nach WILHAIM 1948	+	+								
Argentum-Reaktion nach LANGE und HEUER 1924	+	+		+	+					+
Aluminiumsulfat-Zentrifugier-Reaktion nach MOLNAR 1933	+			+						+
Cadmiumsulfat-Reaktion nach WUNDERLY und WUHRMANN 1945	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Reaktionen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Oligodynamische Metall-Reaktion nach REITLER	+	+	+							+
Kupferazetat-Reaktion nach VERMES	+		+							+
BOTHELLO-Reaktion 1921	+	+	+	+	+		+	+	+	+
Vandinsäure-Reaktion nach BENDIEN 1931	+	+		+	+		+		+	+
Essigsäure-Labilglobulin-Reaktion nach LEENDERTZ 1926	+			+	+				+	
Milchsäure-Gelierungs-Reaktion nach KOPACZIEWSKY 1934	+	+			+					+
Präzipitierende Meiostagmin-Reaktion n.ASCOLI u.IZAR 1920	+		+	+						
Tannin-Reaktion n.WIEGAND 1924	+			+	+					+
Formol-Reaktion nach GATE und PAPACOSTAS 1920	+	+	+	+						+
Äthanol-Reaktion nach DARANYI 1921	+		+	+		+				+
Alkazid-Reaktion nach WALDENSTRÖM 1944	+	+								
Äthanol-Äther-Rhizinolsäure-Reaktion nach ASCOLI und D'ALLESSANDRO	+	+							+	
Melanin-Eisenalbuminat-Reaktion nach HENRY 1927	+	+	+						+	+
Trypanblau-Reaktion nach SEITZ 1947	+	+		+		+		+	+	
Lecithin-Reaktion nach PORGES und MEIER 1907/08	+		+	+						+
Universal-Serologie-Reaktion nach KAHN	+									+
Flockungs-Trübungsreaktion nach KAHN 1923	+	+	+	+		+			+	+
Oktab-Reaktion Nach JACOX 1951	+		+	+						
Kongorubin-Reaktion nach BONSMANN 1921	+			+		+		+		+

Reaktionen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kongorubin-Reaktion nach FARMER LOEB 1923	+									
Kongorot-Reaktion nach ZAMPA 1927	+		+	+						+
Kongoblau-Reaktion nach SEITZ 1947	+	+	+	+					+	+
Berliner-Blau-Reaktion LEDERER 1931	+									
Gelatine-Prostaxie-Reaktion nach FISCHER 1922	+									
Hitzekoagulationspunktbestimmung n.MAYER und ROSENOW 1922	+	+	+	+		+		+	+	+
Grenzflockungsreaktion nach HUGGINS, MILLER u.JENSEN 1949	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Koagulationsband nach WELTMANN 1930	+	+	+	+	+	+	+		+	+
Hitzetrübungsreaktion nach EHRENTHEIL u.WEIS-OSTBORN 1923	+						+	+	+	+
Serumkochprobe n.KÜRTEN 1937	+	+	+	+	+					
Hitzeflockungs-Reaktion nach v. DUNGERN 1915	+									+
Hitzekoagulationsindex in Plasma nach BLACK, KLEINER und BOLKER 1948	+			+						+
Neutralrot-Reaktion nach ROFFO 1925	+	+	+	+		+	+		+	+
Sero-Reaktion nach GROS 1927	+									+
Phenolsulfonphthalein-Reaktion nach HUGGINS, JENSEN und PLAYER 1949	+				+					
Meiostagmin-Reaktion nach ASCOLI und IZAR 1910	+	+	+	+		+	+			
Säurebindungs-Reaktion nach ASCOLI, D'ALLESSANDRO, INDOVINA 1933	+									
Reaktion des "Trockenen Tropfens" nach DOLD 1921, DOURIS und MONDAIN 1927, OLBUCHI 1950 und BOLEN 1942	+									+

Für die vorangegangene Tabelle wurde folgende Einteilung getroffen:

Gruppe 1 : Malignome
Gruppe 2 : Lebererkrankungen
Gruppe 3 : akute Infektionserkrankungen
Gruppe 4 : akut-entzündliche Erkrankungen
Gruppe 5 : Gravidität
Gruppe 6 : Unterernährungszustände
Gruppe 7 : Diabetes
Gruppe 8 : Blutkrankheiten
Gruppe 9 : Nierenerkrankungen
Gruppe 10: spezifische Infektionserkrankungen (Lues, Lepra, Tuberkulose)

Seroflockungsreaktionen mit Gallensäurederivaten

H. S. P e n n arbeitete ebenfalls an der Überprüfung der Behauptung, Karzinome bzw. deren Produkte hätten Antigeneigenschaften. Er stützte sich dabei auf ein Flockungsphänomen, welches bei Vermischung von Seren Karzinomkranker mit einer nicht verseifbaren Leberfraktion, dem "Antigene A" eintrat. Zwar fand man diese Flockungsreaktion ebenfalls bei Patienten, die an keinem Neoplasma litten, jedoch in weit geringerem Umfange. Am seltensten war jedoch der Test bei gesunden Patienten positiv.

Aus diesem Grunde wurde die Antigeneigenschaft dieses sogenannten "Antigene A" in einer Serie von S c h u l t z

D a l e Tests untersucht, und man erhielt positive Ergebnisse bei Meerschweinchen, die mit dieser nicht verseifbaren Fraktion sensibilisiert worden waren. Man bestimmte durch Elektrophorese die erhaltene Fraktion und fand, daß diese hauptsächlich an die alpha- 1 Fraktion gebunden war. Die serologische Aktivität wurde durch standardisierte Flockungsreaktionen bestimmt.

Man erhielt in 96 % der Fälle eine Flockungsreaktion, wenn man den Leberextrakt gestorbener Krebskranker unter bestimmten Bedingungen mit dem Serum anderer Krebskranker zusammenbrachte. Es wurden auf diese Art 10.830 Tests durchgeführt, deren Ergebnisse in der folgenden Tabelle wiedergegeben werden.

Gesamtzahl der Reaktionen	Zahl der positiven Krebsseren	%	Zahl der positiven Nicht-Krebskranken	%	Gesunde positive Patienten	%
10.830	3.025	92 %	4.244	25 %	3.561	0,8 %

Ermutigt durch die guten Ergebnisse, stieß man bei den weiteren Untersuchungen jedoch immer wieder auf Schwierigkeiten bei der Beschaffung frischer Menschenleber. Versuche mit Extrakten aus Rinderleber, -Hypophyse, -Nebenniere und -Gonaden führten zu keinen brauchbaren Ergebnissen.

Auf der Suche nach Stoffen mit Antigeneigenschaften fand man schließlich Deoxycholansäurederivate, die als Antigene zu gebrauchen waren und serologisch aktive Fraktionen darstellten. Sie wurden als "Antigene" B, C

und D bezeichnet. "Antigene" D erwies sich als am besten geeignet, da es den höchsten Prozentsatz positiver Tests ergab. Es handelt sich aller Wahrscheinlichkeit nach um "Ethylcholadienate". Die Substanz hat einen Schmelzpunkt zwischen 70° und 71° C und eine optische Drehung von $(\alpha)_D^{25^\circ}$ + 30 (Chloroform). Durch weitere Analysen und Infrarotadsorption wurde festgestellt, daß Doppelbindungen und Estergruppen vorhanden sind, Hydroxylgruppen jedoch fehlen.

G. C. H a l l hat nun bei der Durchführung der Tests an dem National Cancer Institute in Amerika die Karzinome in drei Gruppen ziemlich willkürlich eingeteilt. Gruppe I enthielt Karzinome mit lokalen Verletzungen ohne Allgemeinsymptome, Gruppe II Karzinome mit lokalen Verletzungen bei vorhandenen Allgemeinsymptomen, jedoch ohne Metastasen, Gruppe III generalisierte Karzinomatosen. Ein wesentlicher Unterschied bei der Prozentzahl positiver Tests innerhalb der drei Gruppen wurde nicht gefunden.

Interessant war, daß in einem Fall vor der Operation eines Magenkarzinoms der Test positiv war, nach der Extirpation des Neoplasmas jedoch negativ wurde. In zwei anderen Fällen reagierte das Serum nach der Operation weiterhin positiv. Man hatte eine weitgehende Metastasierung während der Operation festgestellt.

G. C. H a l l's Untersuchungen ergaben, daß der Aus-

fall der Reaktion im Zusammenhang mit dem vorliegenden Krankheitsbild stand. Den größten Prozentsatz positiver Tests erhielt man bei den Seren der Krebskranken. Der Grund dafür ist bisher ungeklärt.

H a l l, D o w d y, P e n n und B e l l a n d y erhielten einen positiven Ausfall von 81 - 98 % bei insgesamt 10.000 untersuchten Seren von Karzinompatienten. Bei Patienten, die nicht an einem Tumor erkrankten, lag die positive Rate zwischen 9 und 33 %, während nur 0 bis 4 % der Seren bei gesunden Untersuchungspersonen positiv ausfielen.

I. H. H i l l hingegen erhielt bei Untersuchungen mit "Antigene" D nur 43 % positive Ergebnisse bei 241 untersuchten Karzinomkranken. Im Vergleich zu den vorher angeführten Autoren ein gewaltiger Unterschied. Die folgende Tabelle gibt die Ergebnisse H i l l's wieder.

Sitz des Tumors	Zahl der Patienten	Zahl und % der positiven Ergebnisse	
Magen-Darm-Trakt	50	26	52 %
Uterus	31	10	32 %
Lunge	27	13	48 %
Prostata	19	5	26 %
Leukämie	19	6	32 %
Brust	14	3	21 %
Blase	14	5	36 %
Haut	6	4	67 %
Pankreas	9	5	56 %

Sitz des Tumors	Zahl der Patienten	Zahl und % der positiven Ergebnisse	
Niere	7	2	30 %
Lymphogranulomatose	6	4	67 %
Mischzelltumoren	39	13	33 %

H i l l stimmt mit S pru n t und P e a c o c k überein, wenn er behauptet, daß die Reaktionen nicht karzinomspezifisch seien.

In einer im Mai 1957 von H. F. P e n n veröffentlichten Arbeit gibt der Autor Modifikationen der Seroflockungsreaktion an, die er, durch den unbefriedigenden Ausfall der Ergebnisse angeregt, entwickelt hatte. Vor allem war ihm daran gelegen, den Prozentsatz der "unspezifischen" positiven Tests zu verringern.

Da K i d d festgestellt hatte, daß beim B r au n - P e a r c e - Tumor-Antigen die positiven Tests bei nicht karzinomatösen Kaninchen-Seren sich dadurch beseitigen ließen, daß sie vor Beginn der serologischen Untersuchungen anstatt auf 56° C auf 65° C erhitzt wurden, versuchte P e n n dieses auf seine Untersuchungen zu übertragen. Bei 2.747 untersuchten Personen hatten 22o ein nachgewiesenes Karzinom, 1.822 waren Blutspender und 7o5 Patienten hatten Erkrankungen, die nicht mit einem Malignom in Verbindung standen. Die folgende Tabelle zeigt deutlich, daß der Prozentsatz der "falsch-positiven" Tests bei Zugrundelegung des

Optimums von 64° C wesentlich reduziert worden ist.

Diagnose	Zahl der Patienten	Positive Reaktionen bei erhitzten Seren	
		56° C	64° C
Karzinome	220	204 (93%)	202 (92%)
Gesunde Patienten	1.822	238 (13%)	11 (0,6%)
Nicht-Tumorkranke	705	275 (38%)	771 (10%)

Das Bestehenbleiben von positiven Reaktionen bei nicht an Tumoren Erkrankten führt P e n n darauf zurück, daß im Plasma Veränderungen vorhanden sind, die denen gleichen bzw. ähnlich sind, die bei Neoplasmen vorkommen; ich werde später in der Diskussion noch näher darauf eingehen.

Die Seroreaktionen nach F. C. C h a n g und H. S. P e n n

Ein Antigen ist in der Lage sowohl die Bildung von Antikörpern anzuregen, als auch mit diesen eine spezifische Reaktion einzugehen. Stoffe, die zu dieser Reaktion in der Lage sind ohne selbst Antikörper erzeugen zu können, sind Halbantigene oder Haptene. Diesen ist nur die spezifische Bindungsfähigkeit eigen im Gegensatz zu den Vollantigenen. Bei den Antikörpern handelt es sich um Proteine vom Typ der Globuline, sie entstehen unter der Einwirkung von Antigenen, zu denen sie eine spezifische Affinität zeigen, in bestimmten Körperzellen.

Auf Grund dieser Tatsache kann der Antikörper mit dem Antigen reagieren. Diese Antigen- Antikörperreaktion erscheint in Form von Agglutination und Präzipitation. Es handelt sich dabei um ein nicht hauptvalenzmäßig verbundenes, chemisches Reaktionsprodukt. Ein Antigen kann mit einem Antikörper reagieren, ohne ihn selbst erzeugt bzw. dessen Bildung verursacht zu haben. L a n d s t e i n e r wies nach, daß Stoffe, die nicht zu den Proteinen gerechnet werden können mit Antikörpern in spezifischer Form reagieren können. Er nannte diese Stoffe Haptene. Ein Hapten in Verbindung mit Eiweiß kann zu einem Vollantigen werden und so Antikörper bilden, mit dem wiederum das Hapten allein in spezifische Reaktion treten kann.

K i d faßt seine Vorstellung von der Struktur der Antigene und Antikörper wie folgt zusammen:

1. Antikörper sind Proteine, die sich nicht wesentlich von anderen Serumproteinen unterscheiden, aber mit speziellen physikalischen Eigenschaften ausgerüstet sind.
2. Antigene haben den Proteinen entsprechend ein hohes Molekulargewicht und besitzen die chemische Potenz, Antikörperformationen bilden zu können.
3. Ein einzelnes Atom scheint für die Bestimmung eines Stoffes zum Hapten von Wichtigkeit zu sein. Allerdings sind größere Strukturen mit mehreren dieser Gruppe notwendig, um die Bindung mit dem Antikörper eingehen zu können.

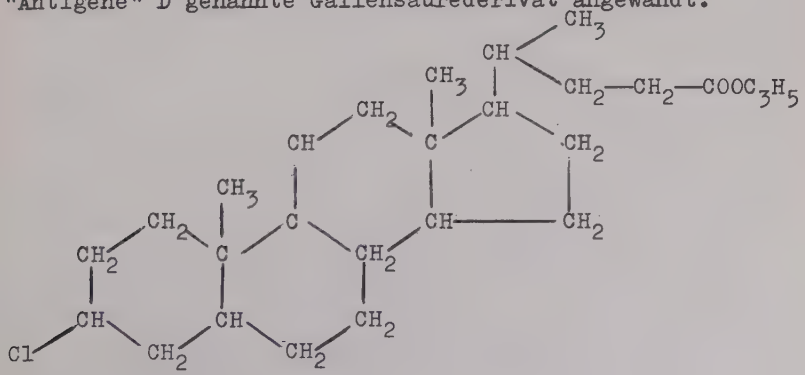
4. Van der W a a l'sche Bindungskräfte, sowie die C o u l o m b'sche Anziehungskraft sind für eine Reaktion des Antigens mit dem Antikörper verantwortlich.

Beim Wachstum von Geschwülsten entstehen Stoffe, die entweder als Eiweißkörper, oder aber als Haptene in Verbindung mit Proteinen des Körpers antigen wirken können, wobei M e y t h a l e r bei den Haptenen vor allen Dingen Lipide annimmt. Da bisher Erreger als gemeinsame Ursache aller Tumoren noch nicht festgestellt werden konnten, müßte die Tumorzelle selbst Antigene enthalten bzw. produzieren, wobei man berücksichtigen muß, daß diese nur im Zusammenhang zum Organismus antigen wirken. Wenn diese Antigene zum Teil ins Blut gelangen würden, müßte man erwarten, daß vom RES Antikörper gebildet werden. Die Folge davon wäre logischerweise eine Antigen- Antikörperreaktion, die vor allen Dingen an den zellständigen Antigenen vor sich gehen müßte.

F. C. C h a n g hält die von ihm erprobte Seroflockungsreaktion für eine solche Antigen- Antikörperreaktion, obwohl er Antikörper bisher im Serum Krebskranker noch nicht nachweisen konnte. Als "Antigene", in diesem Falle handelt es sich um Haptene, werden bei der vorliegenden Reaktion Steroide nämlich Gallensäurederivate angewendet. Da Karzinom-Antikörper meines Wissens nach noch nicht eindeutig nachgewiesen worden

sind, wäre es wohl angebrachter, bei dieser Reaktion von einer Kolloid-Kolloidreaktion zu sprechen, wobei man sich vorstellen muß, daß zwei kolloidale Systeme miteinander reagieren. Neben den Proteinen des Blutserums reagiert ein weiterer Körper mit diesen, der sich ebenfalls im kolloidalen Lösungszustand befindet. Die einzelnen Vorgänge beim Zusammenprall zweier kolloidaler Systeme hängen nicht nur von der Konzentration beider Sole sondern auch von nicht kolloidalen Substanzen, wie Elektrolyten etc. ab. Das Gemeinsame aller dieser Reaktionen ist das Endprodukt, nämlich die Ausfällung beider Kolloide in den schon erwähnten Formen.

Bei der von mir durchgeführten Seroflockungsreaktion habe ich das in der Hautklinik Hamburg-Eppendorf wohlerprobte "Antigen" St. 24 verwand. Es wurde uns von der Firma M e r c k zur Verfügung gestellt; und es handelt sich dabei um ein 3ß-Chlor-9(11)-cholensäure-äthylester. H. S. P e n n hat ebenfalls dieses von ihm "Antigene" D genannte Gallensäurederivat angewandt.



Das Steroid wurde in einer alkoholischen Lösung mit einer geringen Menge Cholesterin und gepufferter Kochsalzlösung vermischt. Diese kolloidale Suspension wurde mit den einzelnen zu untersuchenden Seren vermischt und mit der gepufferten Kochsalzlösung verdünnt. Nach dem Zentrifugieren konnte man die Ergebnisse ablesen. Das Resultat der Untersuchungen unter Zuhilfenahme der Blutsenkung und der Elektrophorese wird in der späteren Diskussion näher behandelt.

Elektrophorese

Schon 1907 wurde die Möglichkeit, Substanzgemische auf Grund der verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld zu trennen, erkannt, und von F i e l d und T e a g u e zur Trennung von Diphtherie- und Antitoxin in einem Agargel benutzt. T i s e l i u s konstruierte 1937 die erste, allerdings sehr kostspielige, Elektrophoreseapparatur, mit der man Lösungen von Proteingemischen im Nernst'schen U-Rohr mit Puffer überschichten konnte, so daß die Trennflächen der einzelnen Proteinzonen optisch registrierbar wurden.

Bestrebungen zur Vereinfachung der Elektrophoreseapparaturen brachten K ö n i g und K l o b u s i t z k y auf die Idee als Trägermedium Papier zu verwenden. Dies war im Jahre 1939. Zu diesem Zeitpunkt wurde die Technik der Papierchromatographie und der Elektrophorese zum erstenmal miteinander verbunden. W i e l a n d und

F i s c h e r waren in Deutschland die ersten, die an der zweidimensionalen Papierchromatographie von Aminosäure- und Peptidgemischen unter Zuhilfenahme von Gleichstrom arbeiteten. T i s e l i u s und C r e m e r spezialisierten sich auf die Elektrophorese von Serumproteinen.

Die Papierelektrophorese hat den großen Vorteil, daß in folge der weiten, porösen Medien keine Konvektion und Wandefekte auftreten, wie wir sie beim Nernst'schen U-Rohr vorfinden. Jedoch hat auch das Filterpapier seine Nachteile. Am auffallendsten ist wohl der Widerstand, welcher das Filterpapier dem Stromdurchgang zu Beginn der Elektrophorese entgegensetzt, wenn die Adsorption des zu trennenden Substanzgemisches am stärksten ist. Im weiteren Verlauf lässt diese Wirkung nämlich nach. Als stationärer Teil der P.E. spielt das Papier für eine gute Auftrennung der verschiedenen zu untersuchenden Substanzen eine wesentliche Rolle.

Eine selektive Ausschaltung bestimmter Anteile durch Chemosorption ist zu vermeiden, wobei sich eine begrenzte physikalische Sorption bei Makromolekülen allerdings nicht ausschalten lässt. Diese Fehler sind umso geringer, je reiner die Zellulose ist. 96 %α-Zellulose ist eine Mindesforderung. Diese ist in starker Natronlauge unlöslich (H.Cassidy). Vom löslichen Anteil fällt Mineralsäure und ß-Zellulose aus, der Rest ist gelöste γ-Zellulose.

Der Gehalt an Mineralstoffen (Asche) ist 0,07 % und sinkt bei doppelt säuregewaschenen Qualitäten auf 0,01 %. Säurewaschungen der Zellulose und Behandlung mit bestimmten ionenaktiven Gruppen ändern die Sorptionsverhältnisse grundlegend. Von mir wurde das weiterentwickelte Whatman II und Schleicher & Schüll Nr. 2043 bgl verwand.

Von außerordentlichem Einfluß auf die Beweglichkeit der Stoffe in dem Filterpapier ist das Molekülvolumen der zu untersuchenden Substanzen, wenn man zum Beispiel Kolloide mit Aminosäuren oder anorganischen Ionen vergleicht (McDonald und Spitzer). Bei gleichen Versuchsbedingungen zeigen Proteine im Vergleich zu Aminosäuren verschiedene Wanderungsgeschwindigkeiten, je nach der verwendeten Papiersorte. Wir haben also zwei Faktoren einzubeziehen: die morphologische Komponente der zu trennenden Stoffe und die jeweilige Materialkonstante. Im Gegensatz zu den Aminosäuren werden die Proteine von der jeweiligen Papiersorte stärker beeinflußt.

Eine Konstanz der Wanderungsgeschwindigkeit der Einzelbestandteile eines zu trennenden Gemisches ist nur dann gewährt, wenn Stromstärke, Feldstärke, Temperatur und Feuchtigkeitsgehalt, sowie der p_H-Wert des angewendeten Puffers während des Versuches sich nicht verändern. G r a s s m a n n und H a n n i g wiesen darauf hin, daß besonders die Temperatur, die ja von der Stromstärke abhängig ist, großen Einfluß auf die Wanderungs-

geschwindigkeit hat. Die im Papierstreifen entwickelte J o u l'sche Wärme wird durch folgende Gleichung bestimmt:

$$Q = \frac{R \cdot I^2}{A} = \frac{V \cdot I}{A},$$

wobei I die Stromstärke in Ampere, R der Widerstand des Papierstreifens pro 1 cm Breite und A das mechanische Wärmeäquivalent, $A = 4{,}185 \cdot 10^7$ erg/cal, ist.

Diese Wärme muß vor allen Dingen bei Anwendung der Hochspannungsionophorese abgeleitet werden bzw. durch entsprechende Vorrichtungen konstant gehalten werden. Um dieser Gefahr aus dem Wege zu gehen, habe ich mit einer Niedervoltspannung von 110 Volt und 0,2 mA bei 14 - 15 Stunden Laufzeit gearbeitet. Die sich hierbei entwickelnde Wärme konnte ich unberücksichtigt lassen. Nicht nur die elektrophoretische, sondern auch die elektroosmotische Kraft wirken auf die wandernden Stoffe. Letztere entsteht durch die elektrische Ladung, die das Filterpapier als kapillares System gegenüber der Pufferflüssigkeit hat. Um der Elektroosmose entgegenzuwirken, muß man stets darauf achten, daß kein ungleiches Niveau der Pufferlösungen, in die die Papierstreifen eintauchen, vorkommt und die "Heberwirkung" nicht eintreten kann.

Proteine, Peptide und Aminosäuren sind Ampholyte. Aus diesem Grunde hat der p_H - Wert des Puffers großen Einfluß auf die Ladung der Teilchen dieser Substanzen. Die Wirkung von Säuren und Basen auf Ampholyte läßt sich

durch folgende Gleichung schematisch wiedergeben:

$$NH_2\text{-}R\text{-}COO^- \xleftarrow{OH^-} {}^+NH_3\text{-}R\text{-}COO^- \xrightarrow{H^+} {}^+NH_3\text{-}R\text{-}COOH$$

Im isoelektrischen Punkt ist der Ampholyt ohne Netto-Ladung gegenüber dem Lösungsmittel, er zeigt also keine Beweglichkeit. Auf der rechten Seite des Schemas trägt der Ampholyt eine positive Nettoladung, er wandert also kathodenwärts; auf der linken Seite des Schemas ist er negativ geladen und wandert zur Anode.

Dadurch, daß Pufferteilchen von Teilchen der wandernden Substanz adsorbiert werden können, tragen auch sie zu deren Ladung bei, so daß auch die chemische Zusammensetzung, insbesondere die Ionenwertigkeit des Puffers, für das Ergebnis der Papierelektrophorese Bedeutung hat.

Experimenteller Teil der Elektrophorese

Den von mir verwendeten Multelphorkammern der Firma Bender & Hobein liegt die Elektrophoresekammer von G r a s s m a n n und H a n n i g zugrunde. Jede Multelphorkammer besteht aus zwei äußeren und zwei inneren Kammern. Der mit Pufferlösung angefeuchtete Filterpapierstreifen wird so über den flachen Teil der Brücke gelegt, daß er durch Adhäsion in seiner Lage gehalten wird. Hierbei ist darauf zu achten, daß die Streifen im Verlauf der Zellulosefasern geschnitten werden, da sie in dieser Richtung eine weniger große Dehnung zeigen, und die Streifen nicht durchhängen. Die Brücken

werden mit ihren beiden Pfeilern in die inneren Kammern gestellt. In den beiden äußeren Kammerteilen befinden sich die beiden Elektroden. Zur Sicherung gegen Elektrolytverschiebung tauchen sie in ein Labyrinthsystem ein. Während des Versuches wird der Glasdeckel so auf die Multelphorkammer gelegt, daß über den Papierstreifen eine feuchte Kammer entsteht, während gasförmige Elektrolyseprodukte, die während des Versuches in den beiden äußeren Kammerteilen entstehen, nach außen entweichen können. Die Verbindung zwischen innerer und äußerer Kammer wird durch zwei Glasröhrchen gewährt, die mit Glaswolle verstopft sind. Wird, wie im vorliegenden Fall eine Spannung von 110 V angelegt, so wird am Papierstreifen eine Potentialdifferenz von 80 V wirksam (Wunderly). In jeder Multelphorkammer können sechs Streifen von 4 cm Breite eingelegt werden. Jeweils zwei bis drei dieser Kammern wurden an ein Elphor-Drucktasten-Speisegerät der obengenannten Firma angeschlossen.

Vor Inbetriebnahme des Gerätes mit den Streifen, ist eine Überprüfung ohne Streifen notwendig. Nach Einschalten des Drucktastengerätes darf das Ampèremeter nicht ausschlagen, andernfalls ist das Mittelteil einer Kammer feucht, so daß Kriechströme entstehen oder aber den Hahn für den Niveauausgleich ist nicht richtig verschlossen. Beim Auftragen des Serums ist darauf zu achten, daß das Serum gleichmäßig aufgetragen wird und an beiden Seiten des Streifens etwa 0,5 cm frei bleiben. Die benötigte Serummenge beträgt etwa 0,015 ml. Nach dem Einsetzen

der Brücken müßen die Streifen straff gespannt sein und ca. 0,5 cm in die Pufferlösung eintauchen. Nach etwa 14 Stunden wird das Gerät abgeschaltet, die Kammern geöffnet und die Streifen auf den Brücken für ca. 30 Minuten bei 100 - 120° C getrocknet.

Als Pufferlösung hat sich in der Universitäts-Hautklinik am besten ein Veronal-Puffer vom p_H 8,2 bewährt; die Ionenkonzentration beträgt μ = 0,05135 (Müller). Der p_H - Wert wurde laufend kontrolliert und die Pufferlösung mindestens alle 14 Tage erneuert. Die Zusammensetzung war wie folgt:

103,0 gr Veronal (Natriumdiäthylbarbitur)
4442,5 ccm H_2O bidest.
57,5 ccm 2n HCl

Färbetechnik

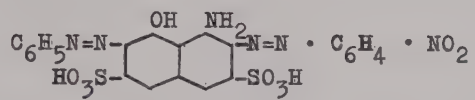
Die Konstanz der Anfärbbarkeit einer bestimmten Proteinmenge muß man bei der Auswertung der P.E.-Streifen voraussetzen. Über dieses Problem ist aber noch nicht das letzte Wort gesprochen. Der nicht zu normierende Färbevorgang bedingt viele Unsicherheiten. Dieser Umstand führte zu unterschiedlichen Ergebnissen bei verschiedenen Autoren. Die Technik der P.E. ist bei der Färbung des Papierstreifens ohne Einfluß.

Für die Färbung der Proteine kommen folgende Möglichkeiten in Betracht. Schon 1950 hat K ö r v e r die

Färbung mit Azokarmin B, einem Natriumsalz der Phenylrosindulintrisulfosäure, angeregt, die auch W u n d e r l y empfielt.

Amidoschwarz 10 B, wie es von mir verwand wurde, ist ein von G r a s s m a n n, H a n n i g und K n e d e l eingeführter Disazofarbstoff, der als saurer Wollfarbstoff Verwendung findet. Die Bruttoformel lautet:

$$C_{22}\,H_{16}\,O_4\,N_7\,S_2 \quad \text{(Molekulargewicht 572)}$$



Die Papierstreifen werden 10 Minuten lang in ein Färbebad, bestehend aus 5 gr Amidoschwarz 10 B, 500 ccm Methanol, 400 ccm Aqua dest. und 100 ccm Eisessig gelegt und darin bewegt. Danach erfolgt 15 minütiges Entfärben mit Methanol. Jetzt werden die Streifen in ein Bad von Methanol-Eisessig im Verhältnis Methanol puriss./ Aqua dest./ Eisessig wie 5 : 3 : 2 gelegt. Dieses Bad wird so oft erneuert (zwei- bis dreimal), bis die Zellulose völlig entfärbt ist. Dieser Zustand tritt nach etwa zwei Stunden ein.

Als weitere Färbemethoden werden von D u r u m Bromphenolblau und von C a s p a n i e Lichtgrün F.S. angegeben.

Nach dem Entfärben, wie es für Amidoschwarz 10 B ange-

geben war, hat man zwei Hauptmöglichkeiten zur Auswertung der P.E. Einmal das Elutionsverfahren und zum zweiten das transparentphotometrische. Wendet man das Elutionsverfahren an, so muß man nach Zerschneiden der Streifen in die einzelnen Fraktionen den proteingebundenen Farbstoff mit 50 % Methanol und 4 % Soda eluieren. Bei der Messung der optischen Dichte, die am besten bei einer Wellenlänge von 595 mμ erfolgt, muß ein Korrekturfaktor für die stärkere Albuminanfärbung berücksichtigt werden, der mit 1,4 bis 2,2 angegeben wird. Bei der photometrischen Bewertung transparenter Streifen kann darauf verzichtet werden (Wunderly). Die letztere Methode wurde von mir ausgeführt und zwar mit dem Extinktionsschreiber II in Kombination mit einem Integralschreiber als Zusatzgerät, beide von der Firma Carl Zeiss.

Der Extinktionsschreiber registriert selbsttätig die Extinktion von vorbereiteten Elektrophoresestreifen. Die Registrierdauer der üblichen Streifen von 15 cm Länge und 4 cm Breite beträgt etwa 2 Minuten. Der Meßbereich des Gerätes umfaßt einen Extinktionsbereich von E = 0 bis E = 1, welcher von normalen Elektropherogrammen nicht überschritten wird. Die spektrale Verteilung des Meßlichtes wird durch zwei austauschbare Absorptionsfilter bestimmt, welche auf die gebräuchlichen Färbungen der Elektropherogramme abgestimmt sind. Die Meßgröße der Extinktion wird mit einer Genauigkeit von $\pm$ 1 %, bezogen auf E = 1, registriert.

Der Extinktionsschreiber ist mit dem Filter FE 60 ausgestattet. Dieses ist bestimmt für die Auswertung von schwarz oder blau aussehenden Probestreifen, insbesondere für die Färbung mit Amidoschwarz 10 B, aber z.B. auch für Färbung mit Sudanschwarz und Ceres-Schwarz. Am besten geeignet ist dasjenige Lichtfilter, mit dem man bei gegebener Probe die größten Extinktionswerte erhält.

Im Gegensatz zur Absorptionsphotometrie an homogenen Lösungen bei dem Elutionsverfahren besteht hier die Möglichkeit einer ungleichmäßigen Farbstoffverteilung über die Breite des Elektrophoresestreifens. Hierdurch entsteht ein unterschiedlicher Extinktionsverlauf über die durch die Spaltblende ausgeleuchtete Zone und damit eine Fälschung des Meßergebnisses. Die Größe des Fehlers hängt ab vom gemessenen Extinktionsbereich. Entsprechende Meßfehler entstehen, wenn die Fronten der getrennten Fraktionen halbmondförmig gebogen sind. Durch entsprechende Präparation muß dafür gesorgt werden, daß die Fraktionsfronten annähernd geradlinig und parallel zur Spaltblende verlaufen.

Der Extinktionsschreiber registriert die Extinktion einer Probe als Differenz gegen eine vorgegebene Bezugsextinktion. Beim Pherogramm ist dies durch die Extinktion an einer ungefärbten Stelle des Probestreifens gegeben. Die größte durch das Gerät erfaßbare Extinktionsdifferenz beträgt E = 1, welche von Elektropherogrammen normaler-

weise nicht überschritten wird. Wenn die Extinktionsdifferenz einer Probe jedoch größer als E = 1 ist, kann die Kurve in der Höhe nicht ausgeschrieben werden. Läßt sich die Extinktionsdifferenz durch präparative Maßnahmen nicht verkleinern (z.B. durch geringere Substanzmenge oder Verdünnung), so kann die Kurve auf dasselbe Registrierpapier versetzt aufgezeichnet werden. Dies erreicht man durch zweimaligen Probedurchlauf mit verschiedener Einstellung des Schreibstiftes.

Um Proportionalität zwischen Extinktion und Konzentration des Farbstoffes bzw. der Eiweißfraktion zu erzielen, müssen die Elektrophoresestreifen transparent gemacht werden. Hierdurch wird die Streuung des Lichtes verringert und der Lichtdurchlaß vergrößert. Außerdem gelangt man in einen günstigen Empfindlichkeitsbereich des Gerätes und verringert den Einfluß ungleichmäßiger Beschaffenheit des Papierstreifens. Wichtig ist, daß die Transparenz gleichmäßig ausfällt. Durch die in den Papierstreifen enthaltene Luft wird die vollständige Durchtränkung sehr verzögert, so daß eine Einwirkungszeit des Tränkungsmittels von einigen Stunden erforderlich ist. Diese Zeit war bei meinen Versuchen durch die Anwendung von Methylphenyläther ($C_6H_5 \cdot O \cdot CH_3$), Anisol, sehr verkürzt. Geeignete Tränkungsmittel sind solche, deren Brechungsindices mit $n_D = 1{,}51$ der Brechnungszahl der Papierzellulose entsprechen und die den angewendeten Farbstoff nicht lösen. (Grassmann und Hannig) Der getränkte Streifen muß luftblasenfrei zwischen die Glas-

platten eingelegt werden und überschüssiges Tränkungsmittel mit Filtrierpapier sorgfältig abgetrocknet werden.

Das in zwei Strahlengänge aufgeteilte Licht einer Glühlampe beleuchtet zwei Photoelemente. Diese sind gegeneinander geschaltet, so daß die Differenz gleichgroßer Photoströme Null ist und der Einfluß von Spannungsschwankungen über die Glühlampe kompensiert wird. In einem der beiden Strahlengänge befinden sich, hintereinander angeordnet, ein Graukeil und die zu messende transparente Probe. Ändert sich die Extinktion der Probe, so entsteht aus den unterschiedlichen Beleuchtungsstärken beider Photoelemente ein Differnzstrom, der nach Verstärkung, einen Motor zur Bewegung des Graukeils steuert. Die Stellung des Graukeils wird so geändert, daß die Beleuchtungsstärken beider Photoelemente wieder gleich werden und der Differnzstrom Null wird. Einer bestimmten Änderung der Extinktion durch die Probe entspricht dann eine gegenläufige gleichgroße Änderung der Extinktion durch den Graukeil. Die auf den Schreibstift übertragene Stellung des Graukeils ist ein Maß für die Extinktion, das damit von den Eigenschaften der Photoelemente unabhängig ist. Bei dem Integralschreiber wird die Kurve des Extinktionsschreibers auf elektrischem Wege über einen Kondensator integriert und über einen Verstärker und Motor aufgezeichnet.

Als relative Prozente der einzelnen Eiweißfraktionen wurden von mir folgende Werte bei den Normalseren gesun-

der Patienten gefunden:

Albumine	Globuline			
	α_1	α_2	β	γ
61,5 %	4,6 %	8,1 %	12,1 %	16,2 %

Die Werte ergaben sich bei der oben beschriebenen Methode und stimmen mit denen anderer Autoren weitgehend überein. In den folgenden Tabellen wurden nur die Werte mit + oder - angegeben, die außerhalb der normalen Schwankungsbreite lagen. Mit ++ und -- wurden Abweichungen von über 50 % bezeichnet.

Eigene Untersuchungen mit der Seroflockungsreaktion nach H. S. P e n n und F. C. C h a n g und der Papierelektrophorese

I. Gewinnung des Serums

Das Blut wurde aus der Armvene abgenommen. Die Tageszeit blieb unberücksichtigt. Darauf wurde das Blut 10 Minuten bei 3.000 Umdrehungen/min. zentrifugiert, das klare Serum in saubere Reagenzgläser abgegossen und 0,5 ccm 30 Minuten bei 56° C inaktiviert. Der Rest wurde im Eisschrank bei 4° C aufbewahrt. Mit diesem Rest wurde die Papierelektrophorese und eventuelle Wiederholungstests durchgeführt.

II. Zubereitung der Stammlösungen

1. Stammsalzlösung 10-prozentig

10 g Natriumchlorid (Merck) wurden volumetrisch mit sterilem Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt.

2. Stammlösungen für die Zubereitung der Pufferlösung

a) 0,2 M Natriumacetat:

6,80 g Natriumacetat wurden analytisch eingewogen und volumetrisch mit sterilem Aqua dest. auf 250 ml aufgefüllt. Die Lösung wurde in einer glasstopfenverschlossenen sterilen Flasche im Eisschrank bei 4^{o} C aufbewahrt.

b) 0,2 M Essigsäure:

In eine saubere Flasche wurden 2,9 ml Essigsäure pipettiert und mit sterilem Aqua dest. auf 250 ml aufgefüllt. (Aufbewahrung der Flasche im Eisschrank bei 4^{o} C.)

3. Pufferlösung

(Für den Gebrauch bei Herstellung der 0,6-prozentigen Kochsalzlösung) 12,5 ml der 0,2 M Natriumacetatlösung und 0,3 ml der 0,2 M Essigsäure wurden in einem Meßkolben von 250 ml pipettiert und mit Aqua dest. auf 250 ml aufgefüllt. Der p_H-Wert dieser Lösung lag zwischen 6,1 und 6,5.

4. Natriumchloridlösung

(0,6-prozentig, gepuffert auf p_H 6,4) 15,0 ml der 10-prozentigen Natriumchlorid-Stammlösung wurden in einem Meßkolben von 250 ml pipettiert und mit Aqua dest. auf 250 ml aufgefüllt; dazu wurden 25 ml der Stammpufferlösung pipettiert und gut gemischt. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur aufbewahrt und ihr p_H-Wert jede Woche überprüft. Von der gebrauchsfertigen Lösung wurde jeweils die für den täglichen Gebrauch benötigte Menge in einen Erlenmeyerkolben

abgegossen.

5. Cholesterin-Stammlösung 1-prozentig

0,25 g Cholesterin (Merck) wurden analytisch eingewogen und in 25 ml unvergälltem absolutem Äthanol gelöst. Die Stabilität der Lösung, die bei Raumtemperatur in einem glasstopfenverschlossenen Meßzylinder aufbewahrt wurde, ist alle 4 Wochen zu überprüfen.

6. Herstellung der Stammantigenlösung

Die 80 % äthanollösliche Fraktion des "Antigens" (St. 24 Merck) wurde in 96-prozentigen unvergälltem Äthanol in einer Konzentration von 20 mg pro ml gelöst. Die Lösung wurde unmittelbar vor jeder Testreihe angesetzt.

III. Glassachen

Für den Test wurden normale Citocholröhrchen benutzt (Inhalt ca. 5 ml) sowie Pipetten folgender Einteilung:

0,2 ml-Pipetten in Hundertereinteilung für Seren, Cholesterinlösung und Natriumchloridlösung,

0,1 ml-Pipetten in Hundertereinteilung für die Antigensuspension,

1,0 ml-Pipetten in Hundertereinteilung für die Natriumchloridlösung.

IV. Durchführung des Tests

Die durchschnittliche Anzahl der jeweil untersuchten Seren betrug ungefähr zehn bis zwanzig. Jedes Serum befand sich in einem numerierten Reagenzglas, dessen Nummer mit fortlaufenden Nummern der Patientenkarteikarten übereinstimmte. Für jeden Patienten wurde eine Karteikarte angelegt, auf der Name, Vorname, Alter, Diagnose, Lokalisation und Umfang der Krankheit,

BSG, Bemerkungen und Ausfall der Reaktionen sowie Elektrophoresewerte eingetragen wurden.

Methode nach H. S. P e n n:

1. In einen Röhrenständer wurden zwei Reihen nummerierte Teströhrchen gestellt, für jedes Serum zwei Teströhrchen, nummeriert von I bis II. Außerdem mußte jedes Röhrchen die fortlaufende Nummer der in der Liste notierten Patienten tragen.
2. In Röhrchen Nr. I wurden 0,1 ml und in Röhrchen Nr. II 0,075 ml Serum pipettiert.
3. Für den sofortigen Gebrauch wurde die Antigensuspension folgenermaßen angesetzt:
   a) 0,16 ml der 1-prozentigen Cholesterinlösung
   b) 1,0 ml der Stammantigenlösung
   c) 4,0 ml der 0,6-prozentigen gepufferten Kochsalzlösung wurden nacheinander in ein sauberes spitzes Zentrifugenröhrchen pipettiert und mit einem Korken verschlossen.
   d) Die milchig-trübe Antigen-Suspension wird leicht geschüttelt und ca. 1o Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die hier angegebene Menge der Suspension reicht für ca. 20 Tests.
4. In jedes Röhrchen (Nr.I und Nr.II) wurden 0,1 ml der Antigensuspension pipettiert.
5. Die Röhrchen wurden darauf mit Ständer für 3 Minuten in einer Schüttelmaschine geschüttelt.
6. Dem Inhalt jedes Röhrchens wurden 0,8 ml der 0,6-prozentigen Kochsalzlösung hinzugefügt.
7. Alle Teströhrchen wurden für 10 Minuten in ein Wasser-

bad von 37 ° C gestellt.

8. Anschließend erfolgte Zentrifugieren der Röhrchen für 10 Minuten bei 3.000 Umdrehungen/min.
9. Nach dem Zentrifugieren wurden die Röhrchen leicht aufgeschüttelt und das Ergebnis bei diffusem Licht und unter dem Lupenmikroskop abgelesen.

Methode nach F. C. C h a n g

1. In einen Röhrchenständer wurden drei Reihen Teströhrchen gestellt, und zwar für jedes Serum drei Röhrchen, nummeriert von I bis III, sowie der fortlaufenden Nummer.
2. In Röhrchen Nr. I wurden 0,154 ml gepufferte Kochsalzlösung pipettiert.
3. In die Röhrchen Nr. II und Nr. III wurden je 0,1 ml gepufferte Kochsalzlösung pipettiert.
4. In Röhrchen Nr. I wurden 0,046 ml Testserum pipettiert und mit der Kochsalzlösung gemischt. Aus Röhrchen Nr. I wurden 0,1 ml in Röhrchen Nr. II übertragen.
5. Der Inhalt von Röhrchen Nr. II wurde gemischt und 0,1 ml in Röhrchen Nr. III übertragen, danach wurden 0,1 ml aus Röhrchen Nr. III abpipettiert.
6. Für den sofortigen Gebrauch wurde die Antigen-Suspension folgendermaßen angesetzt:
   a) 0,16 ml der 1-prozentigen Cholesterinlösung,
   b) 1,0 ml der Stammantigenlösung,
   c) 9,0 ml der 0,6-prozentigen gepufferten Kochsalzlösung wurden nacheinander in ein sauberes spitzes Zentrifugenröhrchen pipettiert und mit einem Korken verschlossen.

d) Die milchig-trübe Suspension wurde leicht geschüttelt und ca. 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen.

7. In jedes Teströhrchen Nr. I bis III wurden 0,1 ml der Antigen-Suspension pipettiert und jedes Röhrchen kurz geschüttelt.
8. Der Röhrchenständer wurde in einer Schüttelmaschine für 3 Minuten geschüttelt.
9. Jedem Röhrchen wurden 0,8 ml der 0,6-prozentigen gepufferten Kochsalzlösung zugefügt.
10. Alle Teströhrchen wurden 10 Minuten lang bei 3.000 Umdrehungen/min. zentrifugiert.
11. Nach dem Zentrifugieren wurden die Röhrchen leicht aufgeschüttelt und das Ergebnis bei diffusem Licht und unter dem Lupenmikroskop bestimmt.

Bei der Durchführung der Tests ist darauf zu achten, daß der p_H - Wert der 0,6-prozentigen gepufferten Kochsalzlösung vor dem Gebrauch auf 6,4 eingestellt ist. An einem p_H - Meter wurde vor jedem neuen Test dieser Wert überprüft und durch Zusatz von 0,2 M Natriumacetat bzw. von 0,2 M Essigsäure, wenn nötig, korrigiert. Bei der Herstellung der Antigen-Suspension muß das "Antigen" St. 24 (Merck) durch vorsichtiges Erhitzen im Wasserbad von 37° C in 96-prozentigem Äthanol gelöst werden. Zu schnelles Erhitzen und vor allem zu starke Erwärmung des Äthanols bedeuten Mißlingen des Tests.

Tabellarische Zusammenstellung

Insgesamt wurden 226 Seren der von mir untersuchten Patienten ausgewertet. Im einzelnen handelt es sich um 104 klinisch tumorfreie Kontrollen und 122 Patienten mit Tumoren. Die Kontrollseren teilen sich auf in 51 mit normaler bis erhöhter Senkung und 53 mit hoher Senkung. Die Diagnosen der Kontrollpatienten waren bekannt, und ein Tumor konnte bis auf einen Fall weitgehend ausgeschlossen werden. Bei den Tumoren handelte es sich in allen Fällen um sichere Neoplasmen. Zweifelhafte Diagnosen wurden nicht aufgeführt.

Das Krankengut stammt ausschließlich aus den Kliniken der Universität Hamburg und zwar aus der Hautklinik, der I. und II. Medizinischen Klinik, der Nordwestdeutschen Kieferklinik und der Frauenklinik.

Die Einstundenwerte der Blutsenkungsgeschwindigkeiten wurden den Krankenblättern entnommen. Der Tag der Blutentnahme für die serologischen Untersuchungen und die P.E., sowie das Datum der Bestimmung der BSG stimmen überein. Die serologischen Untersuchungen, die Elektrophoresen und deren Auswertung wurden in der Hautklinik von mir durchgeführt.

Untersuchungen von 226 Seren mit "Antigen" D und Elektrophorese

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ
	Patienten mit normaler und erhöhter BSG								
1	Warzen	5	0	0			-		
2	Hand-, Fußmykose	16	0	0	-	-			++
3	Oligospermie	7	0	0					
4	Aspermie	3	0	0	-				
5	Oberkieferabszeß	25	0	0	-		++		
8	Erythema nodosum	20	0	0	-		+		
45	Erythemathodes	5	0	0	-				
12	Kontaktekzem	12	0	0					
13	Bakterielles Ekzem	18	0	0	-				+
16	Ekzematoid	15	0	0	-		+		+
20	Milzbrand	20	0	0					
21	Phimose	2	0	0		+		--	
23	Epididymitis	9	I	I		++	+	--	--
24	Epidermophytie	3	0	0					
26	Psoriasis vulgaris	3	0	0		++		--	
27	Neurodermitis	13	0	0	-		+		
46	infektallergischer Prozeß	7	0	0	-				+
34	Erythemathodes	13	I	I	-				+
35	Dermatitis	10	I	I		-			
36	Hypogonadismus	5	0	0					
37	Neurodermitis	5	0	0	-				+
39	Psoriasis	30	0	0	+			--	
40	Naevus, Ohr	2	0	0					
42	Akne vulgaris	6	0	0	-				+
43	Ekzem	8	0	0					
44	Urethritis	5	0	0	-				-
50	Phimose	2	0	0	+			-	--
51	Psoriasis	1	0	0					-
225	Oberkiefer Abszeß	16	I	II	-		+		+
53	Gonorrhoe	8	0	0	+			--	
60	Unterkieferfistel	12	0	0	-	+			+
66	Unterkieferabszeß	22	0	0			++		-
68	Gesichtsplastik	20	0	0	-				+
69	Mundhöhlenplastik	16	0	0	-				+

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	Globuline α_1	α_2	β	γ
	Patienten mit normaler und erhöhter BSG								
95	Muskeldystrophie	20	0	0	+	-			-
94	Strahlennekrose	5	0	0	+	-	---		-
110	Acanthosis nigricans	6	0	0	-		+	+	
129	Entbestrahltes Ca	10	0	0	-				++
136	Pleuritis	3	II	I	-		+		
218	Commotio	30	0	0					-
141	Oberkieferabszeß	28	0	0	-		++		++
152	Pneumonie	24	0	0	-		++		+
153	Morb.-Koch	21	0	0	-		++		++
170	submandibulärer Abszeß	25	I	I	-		+		
199	Bromoderm	12	0	0					
219	Lebercirrhose	22	II	0	-			+	+
222	perimand. Abszeß	11	I	II	-		+	+	+
230	perimand. Abszeß	24	I	I	-		++		
56	Melanodermie	4	0	0					
192	Oberkieferabszeß	26	II	II	-		++		
	Patienten mit hoher Blutsenkungsgeschwindigkeit								
7	Erysipel	79	0	II	-	++	++	-	
25	Pyodermie	38	II	II					
49	submandibulärer Abszeß	94	II	II			++	-	-
62	Penis-Gangrän	55	I	I	-	+	+		+
55	Lungenempyem	100	II	II	-	++	++		
65	Unterkieferabszeß	44	II	II	-		++		+
29	rhinogene Sinusitis	74	II	II	-	+	++		
106	Retikulose	145	0	0	-	++		+	
112	Hepatitis	49	II	0	-			+	+
116	Parotitis	33	II	I	-		++		
121	Wabenlunge	49	II	0	-	+	+	-	+
130	Mastitis	66	II	0	-		+	+	+
131	Adnexitis	40	II	0					
134	Unterkieferabszeß	46	0	0	-			+	
135	Unterkieferabszeß	58	II	0	-		++		+
178	Lungentuberkulose	60	0	0	-		+	+	+
154	Bronchitis	50	II	II	-		++	---	++

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ
	Patienten mit hoher Blutsenkungsgeschwindigkeit								
167	perimand. Abzeß	103	II	0	-		++	+	
169	perimand. Abzeß	63	II	II	-	++	+		
171	Arteriitis	38	II	II	-		+		+
172	Lebercirrhose	60	II	0	-		+		+
173	Magenulcus	55	II	0	-		++		
174	Totalprolaps	110	II	II	-		+		
179	Balanitis	60	II	II	-		++		+
183	Exsudat d. Lunge	123	II	II	-	++	++		
184	bakterielles Ekzem	54	II	II	-		++		
185	Zooster	45	II	II					
187	Prurigo	42	I	I	-	+	+		
193	Erythemathodes	62	II	II	-		++	++	
194	Psoriasis	85	II	II	-				+
190	Lebercirrhose, Lues II	69	II	I	-		+		++
191	Schläfenabszeß	72	II	II	-				+
38	Erythema nodosum	38	0	0	-				
195	Adnexitis	22	II	0	-	+	++	-	
196	infektiöser Abort	115	II	II	-	+	++		
197	infektiöser Abort	52	II	0	-	++		+	+
198	Hepatitis	65	II	II	-	++	+		+
200	Schleimhautlupus	35	0	0	-		+		+
202	Lebercirrhose	65	II	0	--		+	++	
207	Thrombophlebitis	80	II	0	-	+		+	++
209	subkut.Abszeß,Kiefer	36	0	0	-	+	++		+
211	Mastitis	59	II	I	-	++	++	+	
212	Adnexitis	84	II	II	-	+	++		+
201	Bronchitis	47	II	0	-		++		
223	perimand. Abszeß	75	0	0	-	+	++	+	+
220	Erythemathodes	152	II	I	-				++
224	submandibulärer Abszeß	75	II	II	-		+		+
226	Ulcus cruris	35	0	II	-				++
52	entzündl. Phimose	35	I	I	-		++		
227	Erythrodermie	38	II	II	--	++	++	++	
228	Erysipel	76	0	0	-		+		++
9	Lymphangitis	31	0	0	--		++		++

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Globuline
	Patienten mit hoher Blutsenkungsgeschwindigkeit									
31	submand. + parapharyng. Abszeß	82	II	II	-		++			-
231	submandib. Abszeß	63	II	II	-	++	++			+
	Basaliome									
6	Bas. d. Kalotte	5	0	0	+					-
19	Bas. - Rezidiv- Kopf	8	0	0	-					+
48	Bas. d. Kalotte	9	0	0	-		+			
168	Bas. d. Kopfes	27	0	0		--	+			
188	Ulcus rodens	10	0	0	-		+	+		
64	Bas. d. Oberlippe	2	0	0	+	-				
232	Basaliom	73	0	0	-		+			++
	Parotismischtumoren									
63		25	0	0	-	++				+
28		20	0	0						
140		33	0	0	-	-	+			
	Sarkome									
18	Rethotel-Sa.d.Kiefers und Abszeß	50	II	II	-			+		
103	Fibro-Sa., Oberkiefer	2	0	0						
111	Natis rechts	57	II	0	-	-	++			
151	Rethotel-Sa.	84	0	0	-		++			++
	Melanome									
23	Melanom d.Rückens	3	II	I		+		--		
41	Melanocytenblastom	5	0	0	-					
67	Mel.d.Oberkiefers	13	0	0	-					+
182	Melanom	17	0	0	-					
186	Melanom	40	0	0	-			+		+
	Morbus Hodgkin									
98		66	II	I	-	+	++			--
113		178	II	II	--	-		++		++
114		55	II	I	-	++	+			-

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	Globuline α_1	α_2	β	γ
	Morbus Hodgkin								
150		118	0	0	-	++	++	-	
	Mykosis fungoides								
14		7	0	II					
57		50	II	I	-	++	++	--	-
	Leukämien								
97	myeloische Leukämie	138	II	I	-		+	-	
107	lymphatische Leukämie	7	0	0					-
203	akute Leukämie	150	II	0	-		+	+	++
204	lymphatische Leukämie	28	II	0	-	++			++
	Sonstige Tumoren								
156	Plasmocytom	107	II	II	--	-		--	++
229	Tonsillenneoplasma	15	0	0	-				+
78	Malignom + Metastasen	16	0	0					
176	Ovarialcystom	8	II	0	-	+	+	-	
	Spinaliome								
10	Bronchial-Ca.	69	II	II	-		++		+
11	Bronchial-Ca.	66	II	II	-	+	++		
15	Bronchial - Ca.	36	II	II	-		++		+
17	Oberkiefer-Ca.	75	II	II	-	+	++		++
33	Bronchial-Ca.	81	II	II	-	++	++		
30	Unterlippenspinaliom	29	0	0	-		++		+
54	Metastasen e.Ca. rechte Halsseite	35	0	0	-		++		-
59	Ca.-Rezidiv Oberkiefer	73	0	0	-	++	+		+
61	Ca.-Rezidiv Oberkiefer	18	0	0		-			
125	Hilus-Ca.	58	0	0	-				++
70	Collum-Ca. II	12	0	0				-	
71	Portio-Ca. III	30	0	0					
72	Portio - Ca. III	22	0	0	-				+
73	Corpus-Ca.	45	0	0	-	+	++		

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ
	Spinaliome								
74	Mamma-Ca.	2	I	I					
75	Cervix-Ca. III	33	0	0	-	-			
76	Ovarial-Ca.	16	0	0					
77	Corpus-Ca.	36	0	0	-		++	+	
79	Hilus-Ca.	25	0	0	-	-	+		
80	Hilus-Ca.	30	0	0	-		+		+
81	Hilus-Ca.	30	0	0	-	-	+		++
82	Bronchial-Ca.	41	II	II	-		+		+
83	Bronchial-Ca.	11	0	0	-		++	+	+
84	Bronchial-Ca.	22	0	0					-
85	Bronchial-Ca.	45	II	I			+		
86	Bronchial-Ca.	95	II	II	-	++	++	+	
87	Übergangs-Ca.Mundhöhle	7	0	0	+	--			--
88	Kiefer-Ca.	12	II	0	-		+		
89	Collum-Ca.	17	0	0	+		+		--
90	Cervix-Ca. III	115	II	II		++		--	
91	Collum-Ca. IV	114	II	I	-		++		+
92	Vagina-Ca.	15	0	0	+		-		--
93	Collum-Ca. III	23	II	0	+			--	-
32	Unterkiefer Ca.	90	II	II			++	-	-
99	Bronchial-Ca.	65	II	II	-		+	++	
100	Portio -Ca.	27	0	0					
101	Corpus-Ca.	19	0	0		+	--		--
102	Lymphangitis carzinomatosa	9	0	0	-	-			+
104	Ca.d.Glandula submand.	15	0	0	-		+		
105	Bronchial-Ca.	40	0	II	-	++	++		+
108	Pleura-Ca.	130	0	0	-		+	-	++
109	Adeno-Ca.	54	II	0	-	+	++	+	+
115	Ovarial-Ca.	68	II	I	-	++			
117	Nasen-Ca.	32	II	II	-		+	+	-
118	Bronchial-Ca.	58	I	I	-	++	++		++
119	Bronchial-Ca.	62	0	0	-		++		

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ
	Spinaliome								
120	Bronchial-Ca.	24	0	0			+		-
122	Rezidiv e.Bronch.Ca.	4	0	0	-	+	++		
123	Bronchial-Ca.	80	II	0	-		++		++
124	Pleuraendotheliom	51	II	II	-		++	+	
126	Bronchial-Ca.	35	II	0	-		++		
127	Mamma-Ca.	30	II	II					-
128	Mamma-Ca.	5	0	0	-		+		
133	Collum-Ca. III	40	II	0		+			-
137	Rezidiv e.U.Kiefer Ca.	9	0	0				-	
138	Unterlippenspinaliom	21	0	0	-	-			+
139	Metastasen nach Mundboden Ca.	16	0	0	-			+	
142	Oberkiefer-Ca., Metastasen	12	0	0	-	-			
143	Rezidiv e.O.Kiefer Ca.	72	II	0	-		++		
144	Rektum-Ca.	26	0	0	-	-			+
145	Collum-Ca. III	16	II	II	-		+	-	+
147	Bronchial-Ca.	17	0	0	-		+		
148	Hilus-Ca.	41	0	0	-		+		+
175	Collum-Ca. III	5	0	0					
146	Rezidiv e.Portio-Ca.	27	0	0	-		+		
155	Metastasen nach Rachenwand-Ca.	9	II	II	-	++	++		-
157	Rezidiv e.Uterus-Ca.	50	II	II	-		+		+
158	Cervix-Höhlen-Ca.III	19	II	0	+				-
159	Metastasen e.Mamma-Ca.	54	II	II	-		++		
160	Rezidiv e.Collum-Ca.	115	II	II	-	+	++		+
161	Collum-Ca. II-III	10	0	0		-			+
162	Collum-Ca. III	24	0	0	-				+
163	Collum-Ca. IV	65	II	II	-	+	++		+
164	Rezidiv e.Portio-Ca.	10	0	0					
165	Collum-Ca. III	6	0	0	-	-	+	+	
166	Corpus-Ca.	2	0	0				-	+
181	Collum-Ca. III	5	0	0	-				+

Pat. Nr.	Diagnose	BSG 1.Std.	Penn	Chang	Alb.	α_1	α_2	β	γ
	Spinaliome								
180	Mamma-Ca.	6	0	0	-				+
177	Cervix-Höhlen-Ca.	11	II	0	-			+	
189	Knochenmetastasen nach Mamma-Ca.	65	II	II		+	++	-	-
149	Lungen-Ca.	42	II	II	-		++		
206	Metastasen nach Kehlkopf-Ca.	9	0	0					
208	Nasen-Rachen-Ca.	21	0	0	-		+	+	+
213	Bronchial-Ca.	47	I	II	-		+		+
214	Bronchial-Ca.	55	I	I	-		+		
215	Bronchial-Ca.	75	I	II	--	++	+		++
216	Bronchial-Ca.	114	I	I	--			++	++
217	Bronchial-Ca.	47	0	0	--	++	+	+	++
221	Magen-Ca. und Metastasen	49	II	0	--	++	++		++

Maßstab für die Bewertung der serologischen Tests bei der P e n n'schen und C h a n g'schen Methode

a) Negativer Test (0)

Diffuse Trübung ohne Flockenbildung

b) Einfach positiver Test (I)

Trübung mit Flockenbildung

c) Zweifach positiver Test (II)

Flockenbildung bei absoluter Klarheit der Lösung

In der tabellarischen Übersicht wurden nur solche Reaktionen als positiv angegeben, die mindestens bei einer von beiden Methoden einen zweifach positiven Test ergaben oder aber bei beiden Methoden zwei einfach positive Tests.

Zusammenfassung der 226 Untersuchungen

Tabelle 1

	Zahl der Untersuchungen	Prozente der positiven Tests	Einstunden-durchschnittswerte der BSG
Kontrollen mit normaler bis erhöhter BSG	51	22 %	13
Kontrollen mit hoher BSG	53	83 %	65
Tumoren	122	43,5 %	39

Einzelergebnisse der Untersuchungen
von 122 Seren von Tumorpatienten

Tabelle 2

	Zahl der untersuchten Tumoren	Prozente der positiven Tests	Einstunden-durchschnittswerte der BSG
Basaliome	7	0 %	19
Mischtumoren	3	0 %	26
Sarkome	4	50 %	48
Melanome	5	20 %	18
Hodgkin	4	75 %	104
Mykosis fungoides	2	100 %	29
Leukämien	4	75 %	81
Sonstige Tumoren	4	50 %	36
Spinaliome	89	45 %	38

In Tabelle 1 wird ein Gesamtüberblick über die untersuchten Seren gegeben. Tabelle 2 zeigt eine Aufschlüsselung der Tumoren, wobei die Prozentzahl der positiven Ergebnisse mit der Blutsenkungsgeschwindigkeit in Beziehung gebracht wurde. Weiter ergab sich, daß der durchschnittliche Einstundenwert der BSG bei den positiv

ausgefallenen Tumorseren 55 betrug, während bei den negativen Tests der Einstundenwert nur 27 war.

Eine Aufschlüsselung nach der Lokalisation der Tumoren wurde nicht vorgenommen, da diese bei einem Gesamtergebnis von 43,5 % positiver Ergebnisse bei Tumoren im Vergleich zu 83 % positiver Tests bei den Kontrollpatienten mit hoher BSG für hinfällig gehalten wurde. Wie aus der Aufführung der Einzeluntersuchungen klar hervorgeht, handelt es sich bei den positiven Tumorseren meistens um Patienten mit progredienten Neoplasmen und stark erhöhter BSG, obgleich wiederum nicht gesagt werden kann, daß erhöhte BSG immer mit einem positiven Test einhergeht. (Patient Nr.: 59, 73, 108, 119, 125, 150)

Überblick über Vermehrung und Verminderung der Eiweißfraktionen

Tabelle 3

Kontrollen						Tumoren					
Alb.	Globuline					Alb.	Globuline				
	α_1	α_2	β	γ			α_1	α_2	β	γ	
5	12	22	11	33	Vermehrung	+	7	12	34	14	31
	12	33	3	13	Vermehrung über 50 %	++		16	34	3	16
75	4	1	3	7	Verminderung	-	81	15	1	10	15
3		1	6	3	Verminderung über 50 %	--	6	2	1	5	5
5	23	53	14	44	Vermehrung in Prozent		6	23	56	14	39
75	4	2	9	10	Verminderung in Prozent		71	14	2	12	16

Veränderungen bei positiven Seren

Tabelle 4

Kontrollen mit positiven Testergebnissen: Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ			Tumoren mit positiven Testergebnissen: Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ
	7	16	8	18	Vermehrung	+		2	11	18	6 11
	9	23	2	7	Vermehrung über 50 %	++			11	23	3 10
45	1		4	1	Verminderung	-		38	3		5 11
2			2	1	Verminderung über 50 %	--		5			4 1
	29	71	18	45	Vermehrung in Prozent			4	41	76	17 39
85	2		11	4	Verminderung in Prozent			80	6		17 22

Veränderungen bei negativen Seren

Tabelle 5

Kontrollen mit negativen Testergebnissen: Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ			Tumoren mit negativen Testergebnissen: Alb.	Globuline α_1	Globuline α_2	Globuline β	Globuline γ
5	4	7	5	13	Vermehrung	+		5	1	16	8 20
	2	8		6	Vermehrung über 50 %	++			5	11	6
26	2	1	1	6	Verminderung	-		43	12	1	5 4
1		1	4	1	Verminderung über 50 %	--		1	2	1	1 4
10	13	31	10	40	Vermehrung in Prozent			7	9	40	12 38
56	4	4	10	15	Verminderung in Prozent			65	21	3	9 12

In Tabelle 3 werden die Eiweißveränderungen bei Tumoren und Kontrollen erläutert. Eine allgemeine Richtung der Veränderung von der grob- zur feindispersen Seite der Proteinfraktionen ist eindeutig. Gemeinsam ist sowohl den Tumoren als auch den Kontrollen die starke Erhöhung der α_2 - Fraktion. Ihr folgen die γ - und α_1 - Fraktion.

Vergleicht man in Tabelle 4 die Veränderungen der Eiweißfraktionen bei Tumoren und Kontrollen mit positiver Seroflockungsreaktion, so fällt hier die markante Erhöhung der α_2 - Fraktion sowohl bei den Tumoren als auch bei den Kontrollen auf.

Diese Erhöhung tritt in Tabelle 5 bei den Tumoren und Kontrollen mit negativem serologischen Ergebnis ganz in den Hintergrund. Sie gleicht annähernd der Erhöhung der γ- Fraktion.

D i s k u s s i o n

Nach Durchführung von insgesamt 290 Untersuchungen, von denen 226 ausgewertet wurden, kann ich bestätigen, daß die Durchführung der beschriebenen serologischen Untersuchungen bei exakter Arbeitsweise gut funktioniert. Dieses bezieht sich nicht auf die Spezifität des Tests in Bezug auf die Karzinome, sondern auf eine erwartungsgemäße Regelmäßigkeit des Ausfalls der Teste in Sonderheit in Bezug auf das vorliegende Ergebnis, daß nämlich

der überwiegende Prozentsatz der Seren bei hoher BSG positiv reagieren. Die Krankheit an sich spielt keinerlei Rolle. Bei den Kontrollpatienten, die eine hohe Blutsenkungsgeschwindigkeit, mit Sicherheit aber keinen Tumor hatten, kamen fast doppelt soviel positive Tests vor wie bei den Tumorpatienten. Damit ist das Urteil über die Brauchbarkeit der Seroflockungsreaktion gesprochen.

Die vorliegenden Ergebnisse widerlegen die Behauptung von H. S. P e n n und F. C. C h a n g, daß es sich um eine Antigen- Antikörperreaktion handele ganz eindeutig. Zu gleicher Zeit werden die Ergebnisse von P. H e i n , J. H. H i l l und W. M a y e r bestätigt.

Es handelt sich bei dieser Reaktion offensichtlich um eine Eiweißlabilitätsprobe. Bei fast allen positiven Ergebnissen sowohl bei den Kontrollen als auch bei den Tumoren lag eine hohe BSG vor, und es ist sicher richtig, wenn man dies als eine Reaktion auf Eiweißzerfallprodukte im Körper ansieht, die eine Kolloidlabilität hervorrufen. Als spezifischer Test auf Tumoren muß diese Seroflockungsreaktion abgelehnt werden.

Bei der Betrachtung der Veränderungen innerhalb der Eiweißfraktionen erkennt man generell eine Verschiebung zur grobdispersen Seite.

Im einzelnen deuten die Ergebnisse darauf hin, daß ein positiver Ausfall der Tests mit einer Erhöhung der α_2- Fraktion einhergeht. Bei den positiven Kontrollen war in 71 % der Fälle eine Vermehrung der α_2 - Fraktion eingetreten, bei den positiven Tumorseren in 76 % der Fälle. Es folgten die γ - Globuline mit 45 % bzw. 39 % und die α_1 - Fraktion mit 29 % bzw. 41 %. Bei der β - Fraktion hielt sich die Zahl der Vermehrung und Verminderung die Waage.

Betrachtet man letztlich die Veränderungen bei den negativ ausgefallenen Seren, so wird man feststellen, daß die Vermehrung der α_1 und α_2 - Fraktion um etwa 50 % niedriger ist als bei den positiven Seren, während die Vermehrung der γ Globuline gleich oft vorkommt.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ
Positive Kontrollen	0	29	71	18	45
Positive Tumorseren	4	41	76	17	39
Negative Kontrollen	10	13	31	10	40
Negative Tumorseren	7	9	40	12	38

Prozentzahlen über die Häufigkeit der Vermehrung einzelner Proteinfraktionen.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Nachdem anfangs kurz über das Problem einer Krebsfrühdiagnose referiert wird, folgen die in dieser Richtung unternommenen Versuche auf serologischer Grundlage, die im Laufe der letzten fünf Jahrzehnte Bedeutung erlangt haben.

Nach kurzer Erläuterung der Vorgänge bei den unspezifischen Eiweißlabilitätsproben werden die Erfahrungen verschiedener Autoren über die Seroflockungsreaktion mit Gallensäurederivaten wiedergegeben, und eine Analyse der Vorgänge versucht. Dem folgen theoretische Betrachtungen über die Elektrophorese und die Beschreibung der eigenen Versuche.

Nach einer Wiedergabe der Methodik der selbst durchgeführten serologischen Tests folgt die tabellarische Übersicht über sämtliche durchgeführten Untersuchungen sowie die kritische Betrachtung.

Es ergibt sich, daß die Seroflockungsreaktion zur Krebsdiagnostik unbrauchbar ist, daß es sich nicht um eine Antigen- Antikörperreaktion, sondern um eine unspezifische Eiweißlabilitätsprobe handelt. Auch die Elektrophorese zeigt keine spezifischen Veränderungen bei Tumoren.

Zuletzt muß gesagt werden, daß ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Ausfall der Seroflockungsreaktion und dem Ergebnis der Elektrophorese bei kritischer Betrachtung nicht gefunden werden kann. Ein Zusammenhang zwischen positivem Ausfall der serologischen Testergebnisse und erhöhter Blutsenkungsreaktion ist jedoch eindeutig.

Literaturverzeichnis

1. BAUER, K.
Versuche mit der zytologischen Krebsdiagnose.
Wiener Klinische Wochenschrift
Bd. 48, S. 1409 (1935)

2. BAUER, K.
Zur Diagnose maligner Tumoren aus dem Krankenserum
Wiener Klinische Wochenschrift
Bd. 49, S. 266 (1936)

3. BAUER, K. H.
Das Krebsproblem. Einführung in die allgemeine Geschwulstlehre. Springer - Verlag, Berlin 1949

4. CHANG, F. C.
Contribution from the Division of Chemistry and Division of Pathology and Microbiology, Medical Units, University of Tennessee, USA.
Received November 20, (1956)

5. CHANG, F. C.
"Screening Test based on a Seroflocculation Reaction I", Journal of Amer. Chem. Soc., 1957/79, 2161

6. CHANG, F. C. und SPRUNT D. H.
Seroflocculating Steroids
I. Etyl 3 ß - Chloro - Δ^{11} cholenate
Journal of Amer. Chem. Soc. 1954/76, 3213

7. CHRISTIANI, A. von
Beiträge zur Chemie des Karzinoms; über die spezifische Wirkung des Cholesterinbutyrats auf Krebszellen und die Unwirksamkeit anderer physiologischer Cholesterinester.
Zeitschrift für Krebsforschung
Bd. 48, S. 366 (1939)

8. CREMER, H. D. und TISELIUS, A.
Elektrophorese von Eiweiß in Filterpapier
Biochem. Zeitschrift Bd. 320, S. 273 (1950)

9. DANNMEYER, F., SCHUBERT, J., TREPLIN, L. und SCHNOHR, E.
Die Restspannungsmethode als Grundlage serologischer Untersuchung und Methode.
Acta. path. et microbiol. Scandinavia
Bd. 14, S. 24 (1937)

1o. DANNMEYER, F. und TREPLIN, L.
Beeinflussung der Restspannungskurven Carcinomatöser und Nichtkarzinomatöser durch Therapeutika in vitro. Zeitschrift für Krebsforschung.
Bd. 45, S. 319 (1937)

11. DANNMEYER, F. und TREPLIN, L.
Über Zersetzungserscheinungen des Lezithins im Blut Karzinomatöser.
Zeitschrift für Krebsforschung
Bd. 45, S. 171 (1936)

12. FLASZEN, J. und WACHTEL, H.
Zur Technik der Ausführung der FREUND-KAMINER'schen Krebsreaktion
Klinische Wochenschrift
Bd. 15, S. 684 (1936)

13. FREUND, E. und KAMINER, G.
Über die Beziehungen zwischen Tumorzelle und Blutserum.
Biochemische Zeitschrift
Bd. 26, S. 312 (1910)

14. FREUND, E. und KAMINER, G.
Über die Beziehungen zwischen Tumorzelle und Blutserum.
Wiener Klinische Wochenschrift
Bd. 23, S. 34 (1910)

15. FUCHS, H. J.
Die CaR nach FUCHS
Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin.
Bd. 98, S. 70 (1936)

16. GRASSMANN, W. und HANNIG, K.
Beiträge zur Methodik der papierelektrophoretischen Serumanalyse.
Medizinische Wochenschrift
Bd. 35/36 S. 838 - 846 (1954)

17. HALL, G. C.
Part II Clinical Evalution of a serologically active nonsaponifiable Fraction of liver of cancer-bearing Patients.
Journal of the National Cancer Institute
Bd. 12, S. 1939 (1952)

18. HALL, G. C.
The Role of the Bile-Acid derivates in the Serofloculation Reaction. II Clinical Evalution.
Journal of the National Cancar Institute.
Bd. 16, S. 273 (1956)

19. HALL, G. C., PENN, H. S., DOWDY, A. H., BELLAMY, A. W.
Clinical Evaluation of a Tumor Lipoid Antigene
Cancer Research
Vol. 10, S. 223, 1950/4

20. HAMPERL, H.
Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg (1957)

21. HEEPE, F.
Die unspezifischen Bluteiweißreaktionen
D. Steinkopf-Verlag Darmstadt (1953)

22. HEILMEYER, L und BEGEMANN, H.
Blut und Blutkrankheiten
Handbuch der Inneren Medizin
Bd. 2, S. 27 (1951)

23. HEIN, P.
Experimentelle Untersuchungen zur Serodiagnostik des Krebses.
Dissertation aus der Universitäts-Hautklinik des Universitäts-Krankenhauses Hamburg (1959)

24. HILL, J. H.
The PENN Serofloculation Reaction in Cancer Diagnosis Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.
Bd. 97, S. 524 (1958)

25. HOLT, v. C., VOIGT, K. D. und GAEDE, K.
Papierelektrophorese von Eiweißkörpern bei erhöhter Spannung.
Biochem. Zeitschrift
Bd. 323, S. 345 (1952)

26. KIDD, J. G.
Natural antibody that reacts in vitro with sedimentable constituent of normal tissue cells, demonstration of phenomens. Journal of Experimental Medicine
Bd. 76, S. 557 (1942)

27. KLOPSTOCK, A. und LEHMANN-FACIUS, H.
Studien über cytologische Serumwirkungen. Zugleich ein Beitrag zur FREUND-KAMINER'schen Reaktion.
Klinische Wochenschrift
Bd. 7, S. 1085 (1928)

28. LANDSTEINER, K. und van der SCHEER
On cross Reakctions of egg albumin sera.
Journal of Experimental Medicine
Bd. 71, S. 445 (1910)

29. LEHMANN-FACIUS, H.
Untersuchungen zur Serologie der Karzinomlipoide.
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
Bd. 56, S. 464 (1928)

30. LEHMANN-FACIUS, H.
Über den Mechanismus der Karzinomzellen lösenden Fähigkeit des menschlichen Blutserums.
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
Bd. 59, S. 185 (1928)

31. LEHMANN-FACIUS, H. und TODA, T.
Über den Nachweis der serologischen Spezifität der Krebszellen.
Klinische Wochenschrift
Bd. 9, S. 21 (1930)

32. LEWIS, J. H.
zit. nach H. SCHMIDT

33. MAYER, W.
Tumordiagnostik mit der Seroflockungsreaktion von H. S. PENN und F. C. CHANG. Beziehungen zur BSG und zum Gesamteiweißgehalt des Blutserums.
Dissertation aus der Hautklinik des Universitätskrankenhauses Hamburg (1960)

34. MEYTHALER, F.
Körpereigene Abwehr und Krebs.
Ärztliche Forschung
Bd. 5, S. 217 (1958)

35. NEUBERG, C.
Weitere Beiträge zur Chemie der Geschwülste.
Biochemische Zeitschrift
Bd. 26, S. 344 (1910)

36. PEACOCK, A. C. und WILLIAMS, G. Z.
A study of the PENN-HALL seroflocculation-reaction for cancer.
Journal of the National Cancer Institute
Bd. 18, S. 277 (1957)

37. PENN, H. S.
Tumor Lipoids Part I. Preparation of serologically active nonsaponifiable Fraction of liver of cancer-bearing Patients.
Journal of the National Cancer Institute.
Bd. 12, S. 1389 (1952)

38. PENN, H. S.
A modified Seroflocculation-Reaction in Relationship to invase Neoplasma.
Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine.
Bd. 95, S. 24 (1957)

39. PENN, H. S.
The Role of Bile-Acid derivates in the Seroflocculation Reaction. I. Preparation of the Bile-Acid Derivates.
Journal of the National Cancer Institute
Bd. 16, S. 255 (1956)

40. SCHMIDT, H.
Fortschritte der Serologie
Steinkopf-Verlag, Darmstadt 2. Aufl. (1955)

41. SPRUNT, D. H., HALE, W. M., CHANG, F. C., RICHMOND, S. G., und ERICHSON, C. C.
Present status of cancer tests.
Science, Bd. 122, S. 273 (1955)

42. WALDSCHMITZ-LEITZ, E. und MAYER, K.
Erfahrungen zur polarographischen Krebsdiagnose.
Zeitschrift für physiologische Chemie
Bd. 261, S. 1 (1939)

43. WIELAND, T. und FISCHER, F.
zit. nach Ch. WUNDERLY

44. WITEBSKY, E. und PÖPLAU, P.
Zur Methode des Nachweises karzinom-spezifischer Antigenfunktion.
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Medizin.
Bd. 98, S. 70 (1936)

45. WITEBSKY, E.
Zur serologischen Spezifität des Karzinomgewebes.
Klinische Wochenschrift
Bd. 9, S. 58 (1930)

46. WUHRMANN, F. und WUNDERLY, Ch.
Die Bluteiweißkörper des Menschen
Benno Schwabe & Co., Verlag, Basel (Stuttgart)
3. Auflage (1957)

47. WUNDERLY, Ch.
Die Papierelektrophorese
Methoden und Ergebnisse
Verlag H. R. Sauerländer & Co. (1954)

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. Dr. J. K i m m i g für die großzügige Bereitstellung der Laboratorien der Universitäts - Hautklinik.

Herrn Professor Dr. J. M e y e r - R o h n danke ich besonders herzlich für die Überlassung des Themas, vor allem für seine wissenschaftliche und menschliche Unterstützung.

Frau Dr. W e h r m a n n danke ich für die Einweisung in die Technik der Elektrophorese.

L e b e n s l a u f

Am 21. Januar 1935 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Horst Jacobi und seiner Ehefrau Ruth, geborene Stephan, in Hannover geboren.

Im Frühjahr 1941 wurden wir nach Lindwedel, Kreis Fallingbostel evakuiert. Dort besuchte ich ab Herbst 1941 die Dorfschule bis zum Herbst 1946.
Nach Hannover zurückgesiedelt bestand ich die Aufnahmeprüfung an der Lutherschule, Oberschule für Jungen und blieb dort bis zur bestandenen Reifeprüfung im Frühjahr 1955.
Zum Sommersemester 1955 begann ich mein zahnmedizinisches Studium an der Philippsuniversität Marburg, wo ich im Frühjahr 1958 mein Physikum absolvierte.
Nach fünf klinischen Semestern an der Universität Hamburg bestand ich hier Ende Oktober 1960 das Zahnmedizinische Staatsexamen.